

비타민 B₁₂ 결핍 거대적아구성 빈혈 진단을 위한 Methylmalonic Acid 검사의 유용성

공선영 · 남명현 · 우희연 · 이수연 · 이경아 · 김종원 · 김선희

성균관의대 삼성서울병원 임상병리학교실

Assessment of the Diagnostic Utility of Methylmalonic Acid in Megaloblastic Anemia due to Vitamin B₁₂ Deficiency

Sun Young Kong, M.D., Myung Hyun Nam, M.D., Hee Yeon Woo, M.D., Soo Yeon Lee, M.D., Kyung A Lee, M.D., Jong Won Kim, M.D., and Sun Hee Kim, M.D.

Department of Clinical Pathology, Sungkyunkwan University School of Medicine, Samsung Medical Center, Seoul, Korea

Background : Methylmalonic acid (MMA) is one of the metabolites of the DNA synthesis metabolic pathway wherein vitamin B₁₂ acts as a coenzyme. Vitamin B₁₂ deficiency leads to inhibition of methylmalonyl CoA mutase, and sequential elevation of blood and urine concentrations of MMA. It has been known that the urine concentration of MMA is a more specific and sensitive marker than the hematologic indices and the serum concentration of vitamin B₁₂ for the diagnosis of vitamin B₁₂ deficiency. We investigated the sensitivity of urine concentration of MMA and the usefulness as a differential marker for myelodysplastic syndrome (MDS) and megaloblastic anemia (MA).

Methods : We identified 37 cases that were examined for both urine concentrations of MMA and bone marrow studies from January 1996 to December 2000. Serum concentrations of vitamin B₁₂ and folate were measured by the chemiluminescence immunoassay using ACS:180 (Bayer Diagnostics). Urine concentration of MMA was measured by isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry (GC 8000-gas chromatography MD800).

Results : Of 36 patients, 12 patients were diagnosed with MA, 8 patients with MDS, 5 patients with aplastic anemia based on the bone marrow study. Increased urine concentration of MMA was observed in all the patients with MA, but none of the patients with MDS. Using a cut-off value of 5 mmol/mol creatinine urine concentration MMA, the sensitivity and specificity in diagnosis for MA were 100% and 80%. The correlation between the urine concentration of MMA and the serum concentration of vitamin B₁₂ was insignificant ($r=-0.25$, $P=0.21$). The highest correlation index with urine concentration of MMA was the red cell distribution width ($r=0.74$, $P<0.01$).

Conclusions : We concluded that the urine concentration of MMA was a sensitive marker for diagnosis of MA caused by vitamin B₁₂ deficiency and could be a useful test in the differentiation for MA from MDS. Although a consensus for a diagnostic value of the urine concentration of MMA would be necessary, we recommend using both the urine concentration of MMA and the serum vitamin B₁₂ as primary tests for diagnosis of MA caused by vitamin B₁₂ deficiency. (*Korean J Lab Med* 2002; 22: 145-52)

Key words : Megaloblastic anemia, Methylmalonic acid, Myelodysplastic syndrome, Vitamin B₁₂

접 수 : 2002년 2월 18일
수정본접수 : 2002년 5월 30일
교 신 자 : 김 종 원

우 135-710 서울시 강남구 일원동 50
삼성서울병원 임상병리과 의국
전화 : 02-3410-2705, Fax : 02-3410-2719
E-mail : jwonk@smc.samsung.co.kr

접수번호 : KJCP1571

서 론

거대적아구성 빈혈은 영양 결핍성 빈혈 중 3%의 빈도로 나타나며 비타민 B₁₂ 또는 엽산(folate) 결핍이 그 원인이다[1, 2].

비타민 B₁₂ 결핍은 대부분 장기간 진행되는 초기 증상은 무력감, 기억 장애, 감각이상(paresthesia) 등 비특이적 증상이고 결핍이 심화되면 빈혈과 우울증, 치매와 같은 심각한 신경 증상이 나타날 수 있다[3, 4].

비타민 B₁₂ 결핍 거대적아구성 빈혈의 진단은 임상 증상, 혈액 소치, 평균적혈구용적(Mean cell volume, MCV), 말초혈액도말 소견, 혈청 비타민 B₁₂ 농도 및 골수 검사 소견, Schilling 검사 등의 결과를 종합하여 이루어진다[5]. 하지만, 혈액학적 이상 소견인 혈색소 감소, 평균적혈구용적 증가는 결핍이 심화될 때까지 나타나지 않을 수 있고 골수 검사는 침습적이라는 단점이 있다. 진단에 가장 흔히 이용되는 혈청 비타민 B₁₂ 농도 역시 비타민 B₁₂ 결핍이 아닌 경우에도 증가 혹은 감소가 혼한 것으로 알려져 조기 진단과 확진에 이용하는데 제한점이 있다[6, 7].

Methylmalonic acid (MMA)는 혈청 비타민 B₁₂ 농도보다 비타민 B₁₂ 결핍 진단에 민감도 및 특이도가 뛰어난 뿐 아니라 조직에서 이용되는 실제 비타민 B₁₂ 농도를 반영하는 장점이 있다고 알려져 있다. 비타민 B₁₂ 결핍시 methylmalonyl CoA가 succinyl CoA로 변환되는 대사 과정이 진행되지 못하면 혈액이나 요에서 MMA가 증가된다[8].

저자들은 혈액학 지표나 혈청 비타민 B₁₂ 농도와 비교해 요 MMA 농도가 비타민 B₁₂ 결핍 거대적아구성 빈혈 진단에 있어 유용한 지표인지 확인하고, 거대적아구성 빈혈 이외의 혈액 질환에서의 변화를 관찰해 형태학적으로 거대적아구성 변화를 보일 수 있는 골수이형성증후군과의 감별 진단에 사용될 수 있는지 평가하고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상

1996년 1월부터 2000년 12월까지 삼성서울병원에서 요 MMA 농도와 골수 검사가 1개월 이내에 시행된 총 36명의 환자를 대상으로 하였다. 대상 환자들 중 한 명은 첫 검사 후 2년 뒤에 다시 검사가 의뢰되어 총 37예가 분석 대상으로 정해졌다. 환자들의 연령은 1세부터 81세까지(중증연령 58세) 분포하였고 남녀 각각 18명이 포함되었다.

2. 방법

1) 진단 혈액 검사 및 골수 검사

말초혈액을 K₃-EDTA 항응고제 시험관에 채혈해 자동혈구측정기인 NE-8000 및 R-3000 (Sysmex Co., Hyogo, Japan)으로 전혈구계산(complete blood cell counts, CBC) 및 망상적혈구 수치를 측정하였다. 말초혈액과 골수 검사는 검체를 슬라이드 도말한 후 wright giemsa 염색하고 골수 생검조직은 hematoxylin

eosin 염색을 시행해 관찰했다.

2) 임상 화학 검사

혈청 총단백질, 알부민, 콜레스테롤, 총빌리루빈, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), 혈당, lactic dehydrogenase (LDH), 혈중요소질소, 크레아티닌, 혈청철, 총철결합능 검사, 요 크레아티닌은 Hitachi 747 자동화학분석기(Hitachi Co., Ibarogi, Japan)로 측정하였다. 혈청 비타민 B₁₂와 엽산 농도는 ACS:180 (Bayer Diagnostics, Tarrytown, NY, USA)을 사용해 화학발광자동면역분석법으로 측정하였다. 혈청 비타민 B₁₂와 혈청 엽산 농도의 참고 범위는 211-911 pg/mL와 0.9-15.6 ng/mL이었다.

3) 요 MMA

환자의 무작위뇨를 이용해 요 MMA 농도를 동위원소 희석 기체크로마토그래피-질량분석기(Isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry, GC/MS)로 측정하였다[14]. 1 mL의 요에 내부 표준물질인 동위원소 MMA 50 µg (Cambridge isotope laboratories, Andover, MA, USA)을 첨가하고 1 g NaCl로 포화시킨 후 4N HCl을 첨가하였다. Ethyl acetate 3 mL를 추가하고 2분간 진탕 후 원심 분리하여 추출된 유기용매를 질소가스로 건조시켰다. 추출물을 BSTFA와 1% TMCS 혼합액(Pierce, Rockford, IL, USA) 100 µg로 유도체화시킨 후 이를 시료로 이용하였다. 측정 장비로는 GC8000-MD800 (Fisons, Manchester UK)를 이용하고 SPB-1 capillary column (Supelco, Bellfonta, PA, USA)을 사용하였다. 분석온도는 80°C에서 시작하여 분당 5°C씩 120°C까지 증가시키고 260°C까지는 분당 20°C로 증가시켰다. 측정하고자 하는 MMA는 mas/charge (m/z) 218, m/z 247에서, 동위원소는 m/z 221, m/z 250에서 검출하였다. 측정된 MMA 농도를 요 크레아티닌 농도로 보정하여 mmol/mol Cr 단위로 표시하였다. 참고범위는 선천성 대사 질환이 없는 정상인을 대상으로 본원에서 설정한 5.00 mmol/mol Cr 미만으로 하였다.

4) 환자 임상 정보 수집

대상군의 의무기록을 후향적으로 검토하여 환자들의 임상적 특징에 관한 자료를 수집하였다. 검사의뢰 사유, 검사의뢰 시 임상 증상, 진단, 치료 방법과 치료 후 경과를 조사하였다.

5) 통계 분석

통계적 분석에는 Microsoft Excel 2,000 (Microsoft Co., Santa Rosa, CA, USA)와 SPSS version 8.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA)을 사용하였다. 각 수치에 대한 결과는 평균, 범위, 백분율로 표현하였다. 거대적아구성 빈혈 환자와 골수이형성증후군 환자의 검사 결과 비교는 t-검정을 이용하였고 요 MMA와 다른 검사 지표와의 상관 관계는 상관 분석을 시행하였다. 환자들의 치료 전후의 검사결과는 쌍체 t-검정으로 비교하였다. 거대적아

구성 빈혈 진단을 위한 요 MMA의 적정 cut-off 설정을 위한 receiver operating characteristics (ROC) curve 분석은 MedCalc software (Mariakerke, Belgium)를 사용하였다. 치료 후 검사결과와 변화율은 delta 백분율 변화를 이용하여 분석하였다. $P < 0.05$ 일 때 통계학적 의미가 있다고 판정하였다.

결 과

1. 검사 의뢰 사유 및 환자 증상

요 MMA와 골수 검사는 전혈구계산치 결과 빈혈이나 혈구감소에 대한 추가 검사로서 시행되었다. 특히 증상 없이 우연히 관찰된 빈혈이 8예(22%)로 가장 많았고, 증상별로 전신 쇠약감 6예(16%), 복부 불쾌감 3예(8%), 현기증 3예(8%), 발열 3예(8%)이었다. 그 외에 입마름, 구강 내 궤양, 피부색 변화(yellow skin color), 말초 자통(peripheral tingling sensation)을 호소한 환자도 있었다.

2. 검사소견

전체 환자들의 전혈구계산치, 망상적혈구 수치, 요 MMA 농도, 혈청 비타민 B₁₂ 및 엽산 농도, 골수 검사 결과는 Table 1과 같았다.

골수 검사 소견 상 37예 중 13예가 거대적아구성 빈혈로 진단되었고, 8예는 골수이형성증후군, 5예는 재생불량성 빈혈, 3예는 무거핵구성 혈소판 감소증(amegakaryocytic thrombocytopenia), 2예는 용혈성 빈혈로 진단되었다. 과소세포성 골수(hypocellular marrow)가 2예에서 관찰되었고, 혈액 질환 경과 관찰 중 거대적아구성 빈혈이 의심되어 골수 검사를 시행한 경우가 3예 있었다. 골수 검사 검체가 부적절하였던 33번 예는 자궁경부암 환자로서 이전에 방사선 조사 치료를 받았던 후상장골극에서 골수를 채취하였기 때문에 무세포성 골수(acellular marrow)를 보인 것으로 판단되었다. 이 환자는 비타민 B₁₂ 결핍에 합당한 소견인 신경증상, 혈청 비타민 B₁₂ 감소, 요 MMA 농도의 증가가 나타나 최종적으로 비타민 B₁₂ 결핍으로 진단 하였고 총 13예를 거대적아구성 빈혈로 진단하였다.

전체 환자들의 평균 혈색소치는 남자 7.7 ± 2.9 g/dL (참고범위 13.6-17.4), 여자 8.9 ± 2.6 g/dL (참고범위 11.2-14.8)로, 1예를 제외하고 모두 혈색소 감소가 관찰되었다. 평균적혈구용적은 남녀 각각 97.5 ± 33.0 fL (본원 참고범위 86.5-101.5), 100.5 ± 13.0 fL (본원 참고범위 77.1-99.5)이었고 15예(41%)에서는 평균적혈구용적이 정상이었다. 말초혈액도말소견은 대구성 빈혈(macrocytic anemia)이 22예(59%), 정구성 빈혈(normocytic anemia)이 14예(38%)에서 관찰되었고, 빈혈 없이 혈소판 감소만 관찰된 예가 1예(3%)이었다. 과분엽 호중구는 모두 8예(1-7, 13, 34번)에서 관찰되었는데 2예는 거대적아구성 빈혈로 진단받지 않은 환자

였다.

혈청 비타민 B₁₂는 33예에서, 혈청 엽산은 30예에서 측정하였고 mecobalamin 및 엽산 치료 후 측정한 예는 제외하였다. 측정된 혈청 비타민 B₁₂ 평균 농도는 603 pg/mL (범위: 35-2,859)이었고, 혈청 엽산 평균 농도는 19.1 ng/mL (범위: 0.2-183.0)이었다. 혈청 비타민 B₁₂는 11예에서, 혈청 엽산은 1예에서 감소되어 있었다.

3. 거대적아구성 빈혈과 골수이형성증후군 환자의 검사 결과 비교

거대적아구성 빈혈 환자의 혈색소는 3.7-10.9 g/dL의 범위에 분포하였다. 말초혈액도말 소견 상 대구성 빈혈은 8예(61%)에서 관찰되었고 거대적아구성 빈혈에 특징적으로 알려진 과분엽 호중구는 6예(46%)에서 관찰되었다. 혈청 비타민 B₁₂ 농도는 9예(69%)에서 감소되었고 요 MMA는 5.56-917.60 mmol/mol Cr 범위로 모든 예에서 증가되어 있었다.

골수이형성증후군으로 진단된 8예 중 혈청 비타민 B₁₂와 엽산 농도는 각각 7예와 5예에서 측정되었고 요 MMA는 모든 환자에서 측정되었다. 요 MMA는 1.24-4.86 mmol/mol Cr로 모두 정상 참고치 범위에 속하는 결과를 보였고 혈청 비타민 B₁₂는 14번 예에서 감소, 13번, 16번 예에서 증가한 소견이었다.

거대적아구성 빈혈로 진단 받은 환자와 골수이형성증후군 환자의 일반혈액 및 일반화학 검사 결과를 비교한 결과, 거대적아구성 빈혈 환자에서 백혈구 수, 적혈구분포폭(red cell distribution width, RDW), AST, ALT, LDH, 혈중요소질소, 요 MMA 농도가 유의하게 높은 것으로 나타났고 혈청 비타민 B₁₂ 농도는 다른 지표보다 통계적인 유의성이 낮았다(Table 2).

4. 요 MMA의 적정 cut-off와 다른 검사 결과와의 상관성

요 MMA 증가와 혈청 비타민 B₁₂ 농도 감소가 동시에 관찰된 환자는 9예(24%)로 모두 거대적아구성 빈혈 환자였고 요 MMA만 상승한 경우가 9예, 혈청 비타민 B₁₂ 농도만 감소한 경우가 2예로 불일치율은 29%였다.

정상 참고치인 요 MMA 농도 5 mmol/mol Cr을 기준으로 했을 때 거대적아구성 빈혈 진단에 있어서의 요 MMA의 민감도는 100%, 특이도는 80%이었다. Cut-off치에 따른 민감도와 특이도의 변화를 ROC curve로 분석한 결과 요 MMA 7 mmol/mol Cr에서 민감도 및 특이도는 76%, 82%이고, 10 mmol/mol Cr에서 62%, 92%, 13 mmol/mol Cr에서 61%, 96%, 23 mmol/mol Cr에서 54%, 100%의 결과를 얻었다. ROC curve 결과 가장 적절한 cut-off는 요 MMA 농도 5 mmol/mol Cr이었다.

환자들의 혈청 비타민 B₁₂와 요 MMA 농도 분포는 Fig. 1과 같았다. 전체 환자를 대상으로 혈청 비타민 B₁₂와 요 MMA의 상관성을 분석한 결과 상관계수 $r = -0.23$ ($P = 0.1$)이고, 거대적아

Table 1. Characteristics and laboratory data of patients

No. Case	Sex/Age	WBC ($\times 10^9/L$)	Hb (g/dL)	Plt ($\times 10^9/L$)	MCV (fL)	Reticulocytes (%)	Vitamin B ₁₂ (pg/mL)	Folate (ng/mL)	Urine MMA (mmol/mol Cr)	Bone Marrow Finding
1	M/81	3.7	3.7	129	119.5	1.42	10	4.1	44.76	MA
2	M/78	4.9	4.9	94	115.1	NT	35	12.6	749.70	MA
3	F/75	4.1	5.8	44	135.3	0.60	169	37.0	917.60	MA
4	M/68	4.8	8.0	174	100.4	3.77	1050	NT	5.56	MA
5	M/63	9.3	9.8	51	91.9	1.29	249	0.2	7.37	MA
6	M/62	5.9	10.9	221	113.8	1.36	80	10.8	6.51	MA
7	M/52	3.7	5.7	85	120.5	1.23	NT	9.4	425.70	MA
8	M/41	4.5	8.5	240	92.2	0.87	130	20.0	31.55	MA
9	M/39	12.6	9.6	240	115.0	ND	286	18.9	5.60	MA
10	F/39	2.7	8.0	298	88.9	1.71	122	25.6	228.90	MA
11	F/15	2.8	10.3	19	99.1	3.33	205	4.0	10.40	MA
12	F/1	2.4	6.6	88	90.3	1.45	170	NT	14.89	MA
13	F/79	1.4	8.7	148	87.1	0.70	2550	3.3	4.23	MDS, RA
14	M/69	1.4	6.5	86	117.2	2.90	94	7.4	1.46	MDS, RA
15	M/62	1.8	5.2	87	114.4	0.97	584	20.0	1.40	MDS, RA
16	M/16	1.6	4.2	107	94.6	0.58	1762	5.5	3.03	MDS, RA
17	F/55	4.0	11.1	130	115.9	2.45	440	NT	1.24	HypoMDS
18	F/26	2.8	10.0	229	104.8	2.77	365	7.8	4.86	HypoMDS
19	F/20	1.6	11.0	37	86.3	0.65	NT	NT	2.86	HypoMDS
20	M/73	0.4	1.2	32	105.0	0.37	241	10.3	1.88	MDS, RAEB
21	F/52	2.7	2.9	4	110.5	1.05	547	NT	2.40	AA
22	M/48	3.0	8.4	83	111.9	ND	531	6.5	1.00	AA
23	F/41	3.4	10.1	42	112.0	2.09	412	12.6	10.28	AA
24	F/27	3.4	9.3	42	109.7	3.38	717	9.3	7.17	AA
25	M/20	4.1	7.9	17	110.2	2.45	146	5.0	1.50	AA
26	F/59	0.6	7.4	27	92.8	0.15	1017	3.0	1.37	AT
27	M/50	4.9	12.5	74	107.8	2.04	NT	8.5	2.56	AT
28	F/36	2.3	5.3	26	102.6	1.29	538	3.8	22.28	AT
29	M/61	4.7	11.3	326	111.1	4.20	536	5.7	2.37	HA
30	F/46	4.3	10.6	427	96.8	3.81	896	5.6	3.25	HA
31	F/29	2.7	11.1	185	101.9	1.04	532	7.8	4.09	Hypocellular
32	F/20	1.6	11.0	37	86.3	0.65	NT	NT	2.86	Hypocellular
33	F/45	2.2	9.6	184	100.4	1.73	174	11.1	37.25	Inadequate specimens
34	F/26	3.8	8.8	69	87.0	3.75	230	ND	7.72	AA, BMT, F/U
35	M/35	2.0	10.0	28	105.1	3.02	2859	12.4	4.58	MDS, BMT, F/U
36	M/28	0.4	9.3	31	83.1	0.06	854	127.0	1.65	AL, F/U
37	F/32	30.7	14.3	201	86.7	2.83	1390	6.0	12.67	AL
Average	/46	4.2	8.3	119	104.2	1.90	603	19.0	70.12	

Abbreviations: WBC, white blood cell counts; Hb, hemoglobin; Plt, platelets counts; MCV, mean corpuscular volume; MMA, methylmalonic acid; MA, megaloblastic anemia; NT, not tested; MDS, myelodysplastic syndrome; RA, refractory anemia; HypoMDS, hypocellular MDS; RAEB, refractory anemia with excess blast; AA, aplastic anemia; AT, amegakaryocytic thrombocytopenia; HA, hemolytic anemia; Hypocellular, hypocellular marrow; BMT, bone marrow transplantation; F/U, follow up bone marrow; AL, acute leukemia.

구성 빈혈 환자만을 대상으로 했을 때도 상관계수는 $r = -0.25$ ($P = 0.21$)이었다. 거대적아구성 빈혈 환자들의 요 MMA와 다른 검사결과의 상관 계수는 각각 적혈구분포폭 $r = 0.74$ ($P < 0.01$), 평균적혈구용적 $r = 0.64$ ($P < 0.01$), LDH $r = 0.61$ ($P = 0.04$), 혈색소 $r = -0.57$ ($P = 0.02$), 망상적혈구수 $r = -0.42$ ($P = 0.08$)이었다.

5. 거대적아구성 빈혈 원인 및 치료

거대적아구성 빈혈의 원인 질환, 내시경 소견 및 치료는 Table 3과 같았다. 원인은 위절제술로 인한 경우가 3예, 영양 결핍이 2예,

악성 빈혈 1예, Tufting 장병증 1예, 소장의 혈관염이 있던 예가 1예였고 4예에서는 원인을 규명하지 못하였다. 내시경에서 만성 위축성위염이 4예에서 관찰되었다.

치료 전 환자들의 증상 중 가장 빈번한 것은 전신 피로감으로 50%의 환자가 호소했고 엽산 치료만 시행된 5번 환자를 제외하고는 모든 환자에서 cobalamin 근육 주사를 1회에 1,000 μg , 2주 또는 1개월마다 1회 투여하였다. 치료가 시행된 환자 중 처음 내원 시 증상을 호소했던 9명 중 5번 환자를 제외하고는 모두 1개월 후 추적 관찰 결과 증상 호전을 보였다.

치료 시작 후 2개월 이상 추적 관찰이 가능했던 6명의 환자들의

치료 전과 치료 후 혈색소, 망상적혈구 수치, 평균적혈구용적, 적혈구분포폭을 1개월 간격으로 관찰한 결과는 Fig. 2와 같았다. 치

Table 2. Comparison of the laboratory results in patients who were diagnosed as megaloblastic anemia and myelodysplastic syndrome

	Megaloblastic anemia (n=13)	Myelodysplastic syndrome (n=8)	P value
WBC ($\times 10^9/L$)	5.1 \pm 2.9	1.9 \pm 1.0	0.002*
Hb (g/dL)	7.7 \pm 2.2	7.2 \pm 3.3	0.39
Plt ($\times 10^9/L$)	140 \pm 88	107 \pm 60	0.17
MCV (fL)	106.8 \pm 14.4	103.2 \pm 11.8	0.28
RDW (%)	21.8 \pm 5.3	16.0 \pm 2.1	0.003
Reticulocytes (%)	1.68 \pm 0.93	1.42 \pm 1.01	0.30
Total protein (g/dL)	6.5 \pm 0.8	6.7 \pm 0.6	0.29
Albumin (g/dL)	4.0 \pm 0.6	3.8 \pm 0.6	0.30
Cholesterol (mg/dL)	124 \pm 34	112 \pm 34	0.29
Total bilirubin (mg/dL)	1.0 \pm 0.9	0.7 \pm 0.5	0.15
AST (IU/L)	41 \pm 25	18 \pm 10	0.01
ALT (IU/L)	33 \pm 27	14 \pm 5	0.02
Fasting glucose (mg/dL)	128 \pm 65	111 \pm 26	0.22
LDH (U/L)	3880 \pm 4224	495 \pm 185	0.03
BUN (mg/dL)	19 \pm 5	12 \pm 4	0.004
Cr (mg/dL)	0.8 \pm 0.2	0.9 \pm 0.2	0.16
Vitamin B ₁₂ (pg/mL)	236 \pm 266	862 \pm 856	0.06
Folate (ng/mL)	13.7 \pm 10.3	9.1 \pm 5.3	0.13
Urine MMA (mmol/mol Cr)	204.05 \pm 308.43	2.62 \pm 1.28	0.03

*comparison of laboratory results between in patients diagnosed as megaloblastic anemia and myelodysplastic syndrome revealed significant difference in WBC, RDW, AST, ALT, LDH, BUN and urine concentration of MMA.

Abbreviations: RDW, red cell distribution width; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; LDH, lactic dehydrogenase; BUN, blood urea nitrogen; Cr, creatinine; See Table 1.

료 전후 검사 결과에서 통계적으로 가장 유의한 차이를 보인 결과는 평균적혈구용적($P=0.003$)이고 혈색소($P=0.007$), 적혈구분포폭($P=0.01$), 망상적혈구 수치($P=0.08$)의 순이었다. Delta 백분율 변화를 계산한 결과 치료 후 가장 먼저 변화를 보인 검사 결과는 1주일 후 300%의 변화를 보인 망상적혈구 수치였다.

고 찰

비타민 B₁₂는 육류나 유제품을 통해 섭취되는 영양소로 하루 필요량은 2 μ g 정도이고 체내 보유량 때문에 섭취가 부족해도 결핍 증상이 나타나기까지는 2-5년이 소요된다[10]. 비타민 B₁₂ 결핍은 악성 빈혈 환자, 채식주의자, 노령 인구에서 나타나고 특히 노령 인구의 경우 인종이나 국가에 따라 5-45%의 다양한 빈도로 보고된다[11, 12].

국내에서 노령 인구를 대상으로 한 비타민 B₁₂ 결핍 빈도에 관한 보고는 없지만 본 연구에서 거대적아구성 빈혈로 진단 받은 13명 중 희귀한 Tufting 장병증인 1세 환아를 제외하면 평균 연령이 55세이고, 60세 이상이 6명으로 노령층이 다수였다. 이들 노령 환자의 비타민 B₁₂ 결핍의 원인은 식이와 관련된 것으로 추정되는 것이 2예였고, 특히 만성위축성위염의 소견이 4예에서 관찰되어 노인에서의 만성위축성위염과 비타민 B₁₂ 결핍 발생의 인과관계가 의심되었다[13].

위암 등으로 인한 위절제술 후에도 많게는 환자의 10% 정도에서 비타민 B₁₂ 결핍이 나타날 수 있다는 보고와 같이[14, 15] 3명의 환자에서 위절제술 후 각각 6년, 8년, 11년이 경과한 후 거대적아구성 빈혈이 발병하였다. 따라서, 위절제술 후 환자의 추적 관찰 시 비특이적 증상을 호소할 경우 비타민 B₁₂ 결핍을 의심하고 조기 비타민 B₁₂ 보충을 고려하여야 할 것으로 생각된다.

Table 3. Characteristics and treatment of patients with megaloblastic anemia

No. Case	Symptom	Possible causes	Gastroscopy	Treatment
1	General weakness, Leg swelling	Poor diet	Chronic atrophic gastritis	Mecobalamin
2	General weakness, Leg swelling	Vegetable diet	Chronic atrophic gastritis	Mecobalamin
3	General weakness, Yellowish skin color	NI	Chronic atrophic gastritis	Mecobalamin
4	Abnormal CBC	NI	NT	Mecobalamin
5	Diarrhea	Vasculitis of intestine, EGC	NT	Folic acid
6	Dry tongue, Abdominal discomfort	NI	Chronic atrophic gastritis	Mecobalamin
7	General weakness	Pernicious anemia	NT	Mecobalamin
8	Abdominal discomfort	Gastrectomy	NT	Mecobalamin
10	General weakness	Gastrectomy	NT	Mecobalamin
11	Abnormal CBC	Gastrectomy	Total gastrectomy state	Mecobalamin
12	Abnormal CBC	Tufting enteropathy	NT	Folic acid Mecobalamin
33	General weakness, tingling sensation	NI	NT	Mecobalamin

Abbreviations: CBC, complete blood cell count; NI, Not identified; NT, Not tested.

비타민 B₁₂가 필요한 체내 대사 과정은 methylmalonic CoA가 succinyl CoA로 변환되는 과정과 homocysteine에서 methionine이 합성되는 과정이다. 두 번째 과정에서 tetrahydrofolate의 생

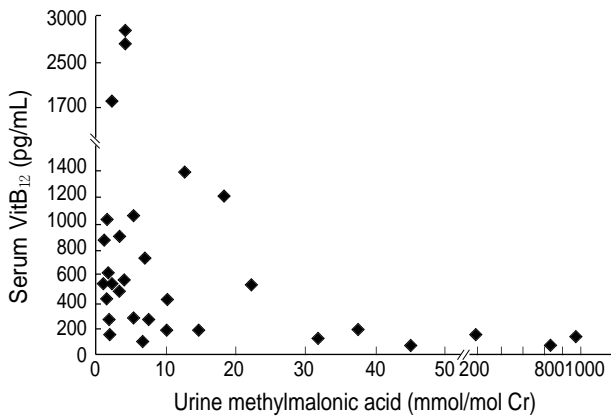


Fig. 1. Urine methylmalonic acid levels vs. serum cobalamin values in patients. The correlation between urine concentration of MMA and serum vitamin B₁₂ concentration was insignificant ($r = -0.25$, $P = 0.1$).

성이 저하되면 DNA 합성 결함이 생겨 거대적아구성 빈혈이 나타나고, 신경계에 필요한 S-adenosylmethionine의 생성의 저하로 신경질환이 발생하게 된다[16]. 본 연구에서는 비타민 B₁₂ 결핍으로 진단받은 환자 중 1예만 신경 증상을 호소했고 대부분 전신피로감과 우연히 발견된 빈혈로 추가 검사를 시행하게 된 경우가 대부분으로 비타민 B₁₂ 결핍 시 비특이적 증상이 주로 나타나 증상만으로는 진단하기 어렵고 혈색소와 평균적혈구용적, 혈청 비타민 B₁₂, homocysteine, 혈중 MMA, 요 MMA 농도, deoxyuridine suppression 검사 등이 필요하다[17, 18].

비타민 B₁₂ 결핍 거대적아구성 빈혈로 진단받은 본 증례들에서 요 MMA 증가는 100%, 혈청 비타민 B₁₂ 감소는 69%, 평균적혈구용적증가는 61%, 과분엽 호중구는 46%에서 관찰되어 요 MMA 농도가 혈청 비타민 B₁₂ 농도나 다른 혈액학적 지표에 비해 민감한 검사임을 알 수 있었다. 위음성 요소를 배제하기 위해 정적구성 빈혈을 보인 거대적아구성 빈혈 환자 5명의 혈청 철, 총 철결합능 검사를 확인한 결과, 1예에서만 철 결핍 빈혈에 합당한 소견이 관찰되었다. 혈청 비타민 B₁₂ 감소를 보이지 않았던 환자에서 골수증식성질환 등의 위음성 요인은 없었으며 특히 혈청 비타민 B₁₂의 증가를 보인 4번 예의 경우 거대적아구성 빈혈 외의

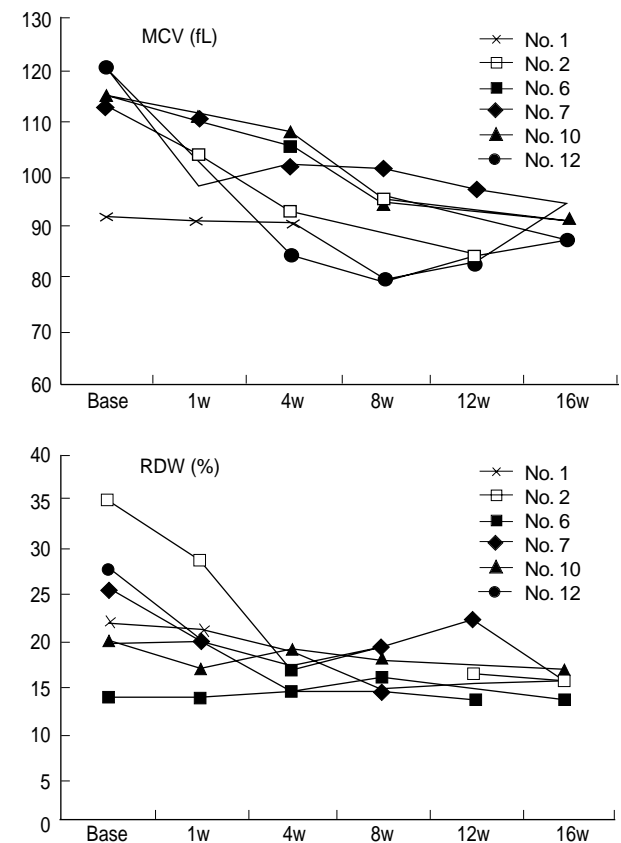
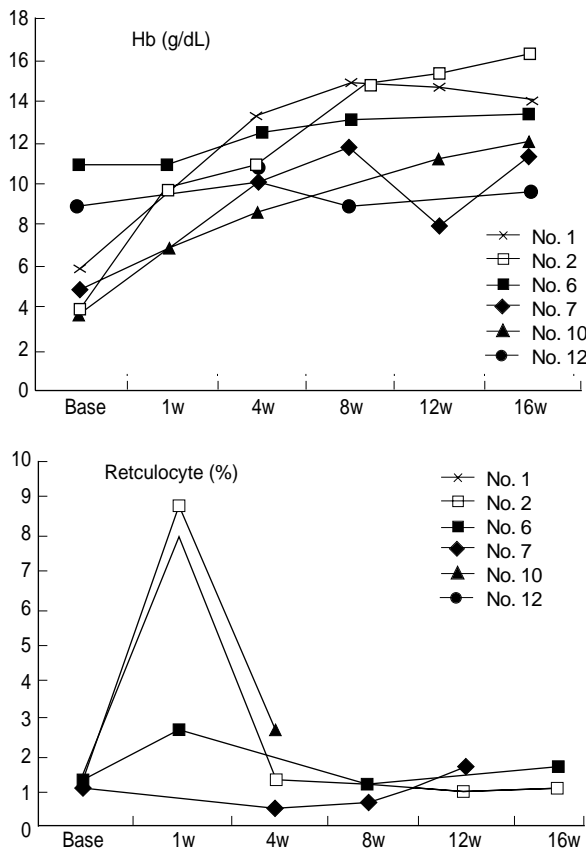


Fig. 2. Changes of hematologic findings after intramuscular cobalamin injection. The four parameters as hemoglobin, mean cell volume, reticulocytes count and red cell distribution width showed significant changes from base to serial follow-up. Reticulocytes count revealed the most early sensitive marker for follow-up. Abbreviations: See Table 1 and 2.

다른 동반된 빈혈의 원인을 고려하여 추가 검사를 시행했으나 다른 빈혈의 원인은 없었고 비타민 B₁₂의 증가를 설명할 만한 원인도 없었다. 따라서, 평균적혈구용적과 혈청 비타민 B₁₂ 농도는 특별한 원인없이 위음성이 흔히 나타나는 것으로 판단되었다[19, 20].

요 MMA 농도 검사는 비타민 B₁₂ 결핍 진단 시 혈액학적 검사나 혈청 비타민 B₁₂농도에 비해 특이도가 높다고 보고되지만[21] 본 연구에서는 비타민 B₁₂ 결핍 환자 이외에 재생불량성빈혈 환자 2명, 무거핵구성 혈소판 감소증 1명, 골수이식 후 1명, 급성 백혈병 환자 1명에서 요 MMA 증가가 관찰되어 참고치를 기준으로 했을 때 특이도가 80%로 기존의 보고보다 다소 낮았다.

골수이형성증후군 중 모세포의 증가나 환상철모구(ringed sideroblast) 증가없이 거대적아구성 변화가 주로 나타날 경우 거대적아구성 빈혈과의 감별이 쉽지 않다. 그러나, 본 연구에서 요 MMA농도가 모든 골수이형성증후군 환자에서 정상 참고치 범위의 결과였고 거대적아구성 빈혈 환자의 요 MMA 농도와 통계적으로 유의한 차이를 보였으므로, 두 질환의 감별이 어려운 환자에 있어 유용한 감별 지표로 이용될 수 있을 것으로 생각된다.

요 MMA와 다른 진단적 지표들의 상관성을 평가한 결과 비타민 B₁₂는 상관계수 $r = -0.23$ ($P = 0.3$)로 Hvas 등이 보고한 $r = -0.22$ 와 유사한 결과를 보였다[22]. 적혈구분포폭은 상관 계수 0.74 ($P < 0.01$)로 요 MMA와 비교적 상관성이 높은 결과를 얻었다. 이는 비타민 B₁₂ 결핍이 심화될수록 대소부동증(anisocytosis)이 심해진다는 것을 의미하는 것으로서, 혈색소나 평균적혈구용적보다 적혈구분포폭이 기능적 비타민 B₁₂ 정도를 나타내는 요 MMA 농도와의 상관성이 크므로 더욱 유용한 지표로 사용될 가능성을 보여준 결과이다.

비타민 B₁₂ 결핍 거대적아구성 빈혈 환자의 치료 후 가장 먼저 나타나는 것은 증상의 호전으로 빈혈 외의 증상은 대부분 1주 내에 호전되고, 망상적혈구는 2-3일, 혈색소는 1주 내, MCV는 4-12주, 요 MMA는 1-2주에 정상 범위로 회복되기 시작하는 것으로 나타난다[3, 4]. 본 연구에서 요 MMA를 6개월 내에 추적 관찰한 환자는 없었기 때문에 2달 이상 추적 관찰된 환자들의 혈액학적 지표를 한달 간격으로 추적한 결과, 문헌에서 보고된 바와 같이 망상적혈구 수치가 가장 많이, 빠르게 변화했고 평균적혈구용적과 혈색소는 4-8주에 완전히 회복되는 양상을 나타냈다. 적혈구분포폭은 문헌에 보고는 없지만 연구 결과 비교적 빠르게 감소하는 양상을 나타내 치료에 대한 반응 지표로 사용할 수 있을 것으로 보였다. 치료 후 추적 관찰에서 12번 환자의 검사 소견 변화가 심한 이유는 치료 후 12주에 소장이식술을 시행 받고 그 후 수혈을 지속하였기 때문으로 보였다.

저자들은 연구 대상을 골수 검사와 요 MMA 검사를 시행한 환자로 제한했지만 골수 검사는 거대적아구성빈혈의 진단에 일반적으로 추천되지 않는 검사이다. 검사가 침습적이고 결핍이 경미할 경우 골수의 거대적아구성 변화를 파악하기 어렵기 때문이다[4]. 이러한 침습적 검사를 지양하기 위해서는 향후 거대적아구성 빈혈 진단에 있어 1차적 검사를 무엇으로 선택할 것인지, 요

MMA 농도가 1차적 검사로 사용될 수 있을지 아니면 추가 검사로 사용되어야 할 것인지에 대한 논의가 필요하다. Holleland 등은 혈청 비타민 B₁₂ 농도가 낮은 범위의 정상 참고치일 때는 혈중 MMA검사를 시행해 비타민 B₁₂ 결핍을 확인하는 것이 비용 효과적이라고 보고했고[5], Snow 역시 200-300 pg/mL의 정상 참고치 혈청 비타민 B₁₂ 농도에서 요 MMA 증가가 있을 경우에 2주 후 재검하여 판단할 것을 권장했다[3]. 연구 결과 거대적아구성 빈혈로 진단 받은 13예 중 혈청 비타민 B₁₂농도가 정상 범위였던 2예는 200-300 pg/mL의 수치를 보였으나 한 예는 오히려 혈청 비타민 B₁₂ 농도가 참고치보다 증가된 양상이어서 낮은 범위의 참고치를 보였을 경우만 추가 검사가 시행된다면 진단받지 못하는 환자군이 생길 수 있다고 판단되었다. 따라서, 저자들은 거대적아구성 빈혈의 진단 시 혈청 비타민 B₁₂와 요 MMA 검사가 동시에 사용되는 것이 바람직할 것으로 생각하였다.

요 약

배경 : Methylmalonic acid (MMA)는 비타민 B₁₂가 조효소로 작용하는 핵산 합성 과정의 산물이다. 비타민 B₁₂가 결핍될 경우 methylmalonyl CoA mutase의 작용을 억제하여 혈액과 요의 MMA 농도가 증가한다. 요 MMA는 비타민 B₁₂ 결핍증 진단에 혈액학적 검사와 혈청 비타민 B₁₂ 농도보다 민감도와 특이도가 뛰어나다고 알려져 있다. 저자들은 요 MMA 농도가 비타민 B₁₂ 결핍 거대적아구성 빈혈 진단에 민감한 지표인지 확인하고 거대적아구성 변화를 보일 수 있는 골수이형성증후군과의 감별 진단에 유용한 지표로 사용될 수 있는지 평가하고자 하였다.

대상 및 방법 : 1996년 1월부터 2000년 12월까지 삼성서울병원에서 요 MMA와 골수 검사를 동시에 시행한 37예를 대상으로 하였다. 혈청 비타민 B₁₂ 및 엽산 농도는 ACS:180 (Bayer Diagnostics)를 사용하여 화학발광자동면역분석법으로 측정하였다. 요 MMA는 동위원소 희석 기체크로마토그래피-질량분석기(GC8000-MD800)로 측정하였다.

결과 : 골수검사 결과 36명의 환자 중 12명이 거대적아구성 빈혈로 진단되었고, 8명은 골수이형성증후군, 5명은 재생불량성 빈혈로 진단되었다. 모든 거대적아구성 빈혈 환자에서 요 MMA 농도의 증가가 나타났고, 골수이형성증후군 환자 중 증가한 환자는 없었다. 요 MMA 5 mmol/mol Cr을 cut-off로 하였을 때 민감도는 100%, 특이도는 80%이었다. 요 MMA와 혈청 비타민 B₁₂는 상관 계수 $r = -0.25$ ($P = 0.21$)로 상관성이 낮았고 상관성이 가장 높은 지표는 적혈구분포폭이었다($r = 0.74$, $P < 0.01$).

결론 : 요 MMA 농도는 비타민 B₁₂ 결핍 거대적아구성 빈혈 진단에 민감한 지표이고 형태학적으로 거대적아구성 소견을 보일 수 있는 골수이형성증후군과의 감별에 이용될 수 있을 것이다. 향후 거대적아구성 빈혈 진단에 있어 요 MMA의 진단적 가치는 논의가 필요한 부분이나 본 연구 결과 비타민 B₁₂ 결핍 거대

적아구성 빈혈에 일차적으로 혈청 비타민 B₁₂와 요 MMA 농도를 함께 사용하는 것을 추천한다.

참고문헌

1. 고윤웅, 한지숙, 박종열, 이삼열, 윤덕진, 김길영 등. 한국에서의 결핍성 빈혈에 대한 고찰. 대한혈액학회지 1979; 14: 3-38.
2. Elghetany MT and Davey FR. Erythrocytic Disorders, In Henry JB, ed. Clinical diagnosis and management by laboratory methods, 20th ed. Philadelphia: WB SAUNDERS 2000; 546-50.
3. Snow CF. Laboratory diagnosis of vitamin B₁₂ and folate deficiency: a guide for the primary care physician. Arch Intern Med 1999; 159: 1289-98.
4. Lindenbaum J, Heaton EB, Savage DG, Brust JC, Garrett TJ, Podell ER, et al. Neuropsychiatric disorders caused by cobalamin deficiency in the absence of anemia or macrocytosis. N Engl J Med 1988; 318: 1720-8.
5. Holleland G, Schneede J, Ueland PM, Lund PK, Refsum H, Sandberg S. Cobalamin deficiency in general practice. Assessment of the diagnostic utility and cost-benefit analysis of methylmalonic acid determination in relation to current diagnostic strategies. Clin Chem 1999; 45: 189-98.
6. Stabler SP, Allen RH, Savage DG, Lindenbaum J. Clinical spectrum and diagnosis of cobalamin deficiency. Blood 1990; 76: 871-81.
7. Lindenbaum J, Savage DG, Stabler SP, Allen RH. Diagnosis of cobalamin deficiency: II. Relative sensitivities of serum cobalamin, methylmalonic acid and total homocysteine concentrations. Am J Hematol 1990; 34: 99-107.
8. Klee GG. Cobalamin and folate evaluation: measurement of methylmalonic acid and homocysteine vs vitamin B₁₂ and folate. Clin Chem 2000; 46: 1277-83.
9. 김정옥 및 김종원. Isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry법에 의한 methylmalonic acid 정량분석. 대한임상병리학회지 1997; 17: 1022-8.
10. Koop H. Review article: metabolic consequences of long-term inhibition of acid secretion by omeprazole. Aliment Pharmacol Ther 1992; 6: 399-406.
11. Norman EJ and Morrison JA. Screening elderly populations for cobalamin (vit B₁₂) deficiency using the urinary methylmalonic acid assay by gas chromatography mass spectrometry. Am J Med 1993; 94: 589-94.
12. Metz J, Bell AH, Flicker L, Bottiglieri T, Ibrahim J, Seal E, et al. The significance of subnormal serum vitamin B₁₂ concentration in older people: a case control study. J Am Geriatr Soc 1996; 44: 1355-61.
13. Krasinski SD, Russell RM, Samloff IM, Jacob RA, Dallal GE, McGandy RB, et al. Fundic atrophic gastritis in an elderly population. Effect on hemoglobin and several serum nutritional indicators. J Am Geriatr Soc 1986; 34: 800-6.
14. 노순태, 김영태, 이승구, 한영찬, 문희승, 김소연 등. 위절제술 후 발생한 빈혈에 관한 고찰. 대한내과학회지 1992; 42: 751-8.
15. 고윤웅, 민진식, 서형찬, 조준식, 이석, 정소영 등. 위암으로 전위절제술을 시행한 환자에서의 비타민 B₁₂ 결핍성 빈혈. 대한내과학회지 1998; 54: 386-96.
16. Norman EJ and Cronin C. Cobalamin deficiency. Neurology 1996; 47: 310-1.
17. Amos RJ, Dawson DW, Fish DI, Leeming RJ, Linnell JC. Guidelines on the investigation and diagnosis of cobalamin and folate deficiencies. Clin Lab Haematol 1994; 16: 101-15.
18. Carmel R, Rasmussen K, Jacobsen DW, Green R. Comparison of the deoxyuridine suppression test with serum levels of methylmalonic acid and homocysteine in mild cobalamin deficiency. Br J Haematol 1996; 93: 311-8.
19. Lindenbaum J. Status of laboratory testing in the diagnosis of megaloblastic anemia. Blood 1983; 61: 624-7.
20. McCann MT, Thompson MM, Gueron IC, Lemieux B, Giguere R, Tuchman M. Methylmalonic acid quantification by stable isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry from filter paper urine samples. Clin Chem 1996; 42: 910-4.
21. Elin RJ and Winter WE. Methylmalonic acid: a test whose time has come? Arch Pathol Lab Med 2001; 125: 824-7.
22. Hvas AM, Ellegaard J, Nexø E. Increased plasma methylmalonic acid level does not predict clinical manifestations of vitamin B₁₂ deficiency. Arch Intern Med 2001; 161: 1534-41.